

Pengaruh Pemberian Tempe terhadap Gambaran Histopatologi Hati Mencit (*Mus musculus L.*) Obes

Tiwuk Susantiningsih¹, Evi Kurniawaty¹, Huzaimah²

¹Departemen Biokimia dan Biologi Molekuler, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

²Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

Abstrak

Obesitas masih menjadi masalah kesehatan di dunia, termasuk di Indonesia. Obesitas merupakan salah satu faktor risiko penyakit Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD). Salah satu upaya untuk mengatasi obesitas adalah dengan pemberian tempe karena salah satu kandungannya, Polyunsaturated Fatty Acid (PUFA) berperan untuk menurunkan kadar kolesterol dalam darah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian tempe terhadap gambaran histopatologi hati mencit (*Mus musculus L.*) obes. Penelitian ini dilakukan menggunakan eksperimen laboratorium. Terdapat 4 kelompok perlakuan, yaitu K-, K+, P1, dan P2 dengan lama percobaan selama 28 hari. Uji statistik yang digunakan adalah uji non parametrik, yaitu uji Kruskal-Wallis untuk menguji pengaruh pemberian tempe terhadap gambaran histopatologi hati mencit (*Mus musculus L.*) obes dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney untuk mengetahui perbedaan gambaran histopatologi hati mencit (*Mus musculus L.*) antar kelompok perlakuan. Hasil dari uji Kruskal-Wallis didapatkan $p=0,000$ sehingga pada K- tidak terlihat perlemakan hati, sedangkan pada K+ terlihat perlemakan hati ($p=0,001$), dan pada P1 serta P2 terlihat perbaikan derajat perlemakan hati ($p=0,027$ dan $p=0,004$). Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh pemberian tempe terhadap gambaran histopatologi hati mencit (*Mus musculus L.*) obes.

Kata kunci: Gambaran histopatologi hati, obesitas, tempe

The Effect of Tempe Against Liver Histopathological Appearance of Obese Mice (*Mus musculus L.*)

Abstract

Obesity still becomes health problem in the world, including Indonesia. Obesity is one of the risk factor of Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD). One of the efforts to solve obesity is by giving tempe because it contains, Polyunsaturated Fatty Acid (PUFA) functioning as decreasing blood cholesterol. The objective of this research was to know the effect of tempe against liver histopathological appearance of obese mice (*Mus musculus L.*). This research was carried out using laboratory experiment. There were 4 groups of treatment, they were K-, K+, P1, and P2 with the period of treatment for 28 days. Non parametric statistic with Kruskal-Wallis test was applied to test the effect of tempe against liver histopathological appearance of obese mice (*Mus musculus L.*) continued with Mann-Whitney test was applied to know the difference of liver histopathological appearance of mice (*Mus musculus L.*) on the group's treatment. The result of Kruskal-Wallis test gained $p=0,000$ so there was no fatty liver on K- while all the mice had fatty liver on K+ ($p=0,001$) and there were improvement of fatty liver degree on P1 and P2 ($p=0,027$ and $p=0,004$). Based on these result, it can be concluded that there was the effect of tempe against liver histopathological appearance of obese mice (*Mus musculus L.*).

Keywords: Liver histopathological appearance, obesity, tempe

Korespondensi: Huzaimah, alamat Jl. Ratu Dibalau Gg. Cipto 21, Tanjung Senang, Bandar Lampung, HP 085269749451, e-mail smilehuzai@gmail.com

Pendahuluan

Salah satu masalah yang hingga kini masih menjadi perhatian dunia adalah obesitas. Obesitas merupakan suatu keadaan terjadinya akumulasi lemak yang berlebihan di jaringan adiposa karena pertambahan berat badan yang dikendalikan oleh berbagai faktor biologi spesifik.¹ Menurut *World Health Organization* (WHO), seseorang dikatakan mengalami *overweight* bila Indeks Massa Tubuh (IMT) ≥ 25 , sedangkan dikatakan obesitas bila IMT ≥ 30 .²

Berdasarkan data global WHO, pada tahun 2014 diketahui bahwa sebanyak >1,9 milyar orang mengalami *overweight* dan 600 juta orang mengalami obesitas pada orang dewasa berusia ≥ 18 tahun. Selain itu, diketahui pula pada tahun 2013 sebanyak 42 juta anak-anak berusia <5 tahun mengalami *overweight* ataupun obesitas. Secara keseluruhan, sekitar 39% penduduk berusia ≥ 18 tahun (38% pria dan 40% wanita) mengalami *overweight* dan 13% dari populasi penduduk dewasa (11% pria dan 15% wanita) mengalami obesitas. Prevalensi obesitas ini

meningkat 2 kali lebih tinggi dari tahun 1980 hingga 2014.² Data ini didukung oleh Sumber Euromonitor Internasional mengenai peningkatan obesitas yang pesat di kawasan Asia-Pasifik dan sejumlah negara diprediksi memiliki tingkat pertumbuhan obesitas tercepat dari tahun 2010 hingga 2020, yaitu Vietnam 225%, Hong Kong 178%, India 100%, Korea Selatan 80,7%, Selandia Baru 52%, dan Indonesia 50%.³

Adapun di Indonesia, berdasarkan data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) Kementerian Kesehatan Republik Indonesia pada tahun 2013, secara nasional diketahui anak-anak berusia 5-12 tahun yang mengalami *overweight* sebesar 10,8% dan obesitas sebesar 8,8%, sedangkan remaja berusia 13-15 tahun yang mengalami *overweight* sebesar 8,3% dan obesitas sebesar 2,5%.³ Selain itu, berdasarkan studi yang dilakukan oleh *Global Burden of Disease*, Indonesia juga merupakan salah satu dari 10 negara dengan tingkat obesitas tertinggi, yaitu 11 juta orang dari jumlah penduduk dewasa.⁴

Menurut WHO, anak-anak yang mengalami *overweight* ataupun obesitas lebih terkait dengan kematian dibandingkan dengan yang mengalami *underweight* dan sebanyak 2,8 juta orang dewasa meninggal setiap tahun karena *overweight* maupun obesitas.³ Hal ini mendorong masyarakat untuk lebih mengetahui berbagai faktor yang dapat meningkatkan risiko obesitas, seperti jenis kelamin, usia, konsumsi zat gizi (energi, karbohidrat, lemak, serta protein), aktivitas fisik, dan stres.⁵

Obesitas merupakan salah satu faktor risiko terjadinya penyakit yang berkaitan dengan penambahan usia, seperti *Diabetes Mellitus* (DM) tipe 2, penyakit kardiovaskular, *osteoarthritis*, *Nonalcoholic Fatty Liver Disease* (NAFLD), dan beberapa jenis kanker.⁶ Salah satu penyakit tersebut, yaitu NAFLD, terjadi karena adanya akumulasi asam lemak dalam berbagai bentuk, terutama trigliserida, akibat pergeseran metabolisme asam lemak yang lebih berperan dalam mendukung lipogenesis daripada lipolisis.⁷

Penyakit NAFLD dapat dikatakan sebagai penyakit yang menyertai obesitas karena prevalensinya meningkat pada orang-orang yang obesitas. Berdasarkan data yang didapatkan dari *Dionysos Nutrition and Liver*

Study, diketahui sebanyak 20-30% penduduk di negara-negara Barat mengalami NAFLD dan jumlah tersebut juga terlihat pada penduduk di negara-negara Timur. Prevalensi penyakit ini meningkat sesuai penambahan usia dengan usia puncak antara 40 serta 65 tahun, dan juga pada anak-anak yang diketahui mengalami obesitas.⁸

Berbagai upaya telah dilakukan untuk mengatasi obesitas, salah satunya dengan pemberian tempe. Tempe adalah produk yang diperoleh dari fermentasi biji kedelai dengan menggunakan kapang *Rhizopus* sp. yang berbentuk padatan kompak, berwarna putih keabu-abuan, dan berbau khas.⁹ Nilai gizi yang terkandung di dalam tempe juga tinggi, terutama yang masih mentah dibandingkan dengan yang sudah matang. Hal ini dibuktikan dengan rata-rata kadar protein di dalam 100 gram tempe mentah dan matang berturut-turut adalah 22,16 gram dan 17,62 gram. Nilai ini menunjukkan bahwa proses pengolahan tempe mempengaruhi kadar zat gizi yang terkandung di dalamnya.¹⁰

Berbagai kandungan di dalam tempe merupakan zat gizi yang berguna bagi tubuh. Salah satu kandungan tersebut adalah Polyunsaturated Fatty Acid (PUFA) yang jumlahnya cukup tinggi karena proses fermentasi akan meningkatkan ketidakjenuhan terhadap lemak. Manfaat dari PUFA ini berupa efek penurunan kolesterol darah sehingga mampu menetralkan efek negatif sterol di dalam tubuh.¹¹

Metode

Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratorium dengan menggunakan *post-test control design group only*. Pada penelitian ini terdapat 4 kelompok perlakuan, yaitu Kelompok Kontrol Negatif (K-) adalah mencit tidak obes, Kelompok Kontrol Positif (K+) adalah mencit obes, Kelompok Perlakuan 1 (P1) adalah mencit obes + tempe 2 gram/hari, dan Kelompok Perlakuan 2 (P2) adalah mencit obes + tempe 4 gram/hari. Penelitian dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi dan Mikrobiologi Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dari bulan Agustus sampai November 2015.

Populasi pada penelitian ini adalah mencit jantan (*Mus musculus* L.) berusia 6–8 minggu dengan berat badan rata-rata mencit

tidak obesitas 20 – 30 gram dan mencit obesitas 31–60 gram. Besar sampel ditentukan sesuai dengan rumus Frederer, yaitu menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Berdasarkan perhitungan yang telah dilakukan, didapatkan jumlah sampel pada setiap kelompok perlakuan adalah 6 ekor mencit jantan sehingga jumlah mencit yang digunakan pada penelitian ini sebanyak 24 ekor.

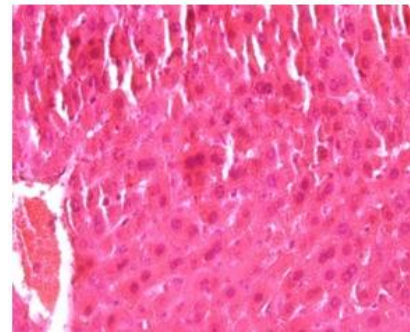
Pada penelitian ini, kriteria inklusi mencit tidak obesitas adalah mencit jantan berumur 6 – 8 minggu, berat badan rata-rata 20 – 30 gram, dan diperoleh serta dipelihara di tempat dan waktu yang sama. Kriteria inklusi mencit obesitas adalah mencit jantan berumur 6 – 8 minggu, berat badan rata-rata 31 – 60 gram, dan diperoleh serta dipelihara di tempat dan waktu yang sama. Adapun kriteria eksklusi pada penelitian ini adalah jika terjadi penurunan berat badan pada mencit jantan selama proses pemeliharaan sebesar >10%, tampak sakit selama proses pemeliharaan, dan mencit mati. Variabel pada penelitian ini terdiri dari variabel independen, yaitu pemberian tempe sebanyak 2 dan 4 gram pada mencit jantan dan variabel dependen, yaitu gambaran histopatologi hati mencit jantan (*Mus musculus L.*).

Hasil

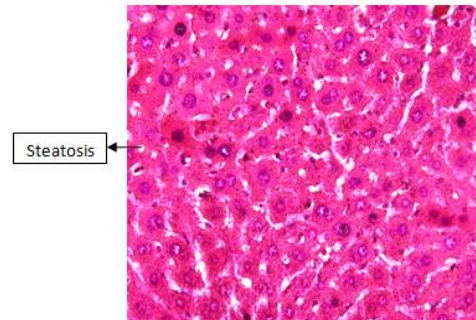
Setelah diberikan perlakuan terhadap mencit jantan selama 28 hari, didapatkan hasil sebagai berikut.

A. Pengaruh obesitas terhadap gambaran histopatologi hati mencit (*Mus musculus L.*)

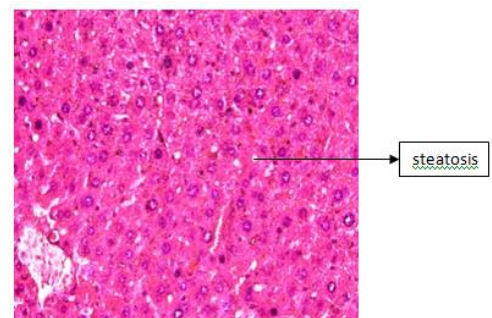
Pada K-tidak terlihat adanya perlemakan hati (tidak ada steatosis, *ballooning*, atau inflamasi intralobular dan portal) yang dapat dilihat pada Gambar 1. Namun, pada K+ terlihat adanya steatosis, *ballooning*, dan inflamasi intralobular atau portal, dengan tingkatan derajat 2 dan 3 yang dapat dilihat pada Gambar 2. Adapun pada P1 dan P2 masih terlihat adanya steatosis, *ballooning*, dan inflamasi intralobular atau portal, tetapi gambaran tersebut lebih baik dibandingkan dengan K+ yang dapat dilihat pada Gambar 3 dan 4



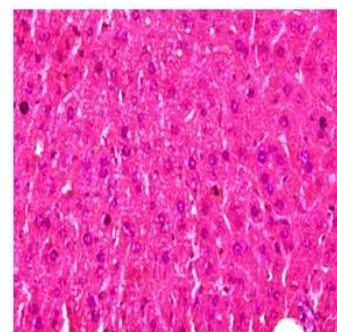
Gambar 1. Histologi hati mencit (*Mus musculus L.*) K- dengan perbesaran 400x



Gambar 2. Histologi hati mencit (*Mus musculus L.*) K+ dengan perbesaran 400x. Tampak gambaran steatosis



Gambar 3. Histologi hati mencit (*Mus musculus L.*) P1 dengan perbesaran 400x. Tampak perbaikan perlemakan yang ditandai dengan berkurangnya gambaran steatosis



Gambar 4. Histologi hati mencit (*Mus musculus L.*) P2 dengan perbesaran 400x. Tampak perbaikan perlemakan yang ditandai dengan berkurangnya gambaran steatosis.

B. Pengaruh Pemberian Tempe terhadap Gambaran Histopatologi Hati Mencit (*Mus Musculus* L.)

Setelah diketahui hasil perlakuan dari masing-masing kelompok, dilakukan uji data untuk melihat kenormalan distribusi derajat perlemakan hati mencit tersebut menggunakan uji *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel yang diteliti <50. Hasil uji normalitas dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Normalitas Derajat Perlemakan Hati Mencit (*Mus musculus* L.)

	Kelompok Perlakuan	p
Derajat perlemakan hati mencit	K+	0,000*
	P1	0,000*
	P2	0,001*

Keterangan:

* = distribusi data tidak normal ($p < 0,05$)

Berdasarkan Tabel 1, data tidak berdistribusi normal sehingga dilakukan transformasi data kemudian dilanjutkan kembali dengan uji *Shapiro-Wilk* dan didapatkan nilai yang sama seperti sebelumnya, artinya data tetap tidak berdistribusi normal. Oleh karena data tidak berdistribusi normal maka digunakan uji *Kruskal-Wallis*. Berdasarkan hasil uji *Kruskal-Wallis* didapatkan nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$) sehingga diketahui bahwa terdapat perbedaan derajat perlemakan hati pada kelompok perlakuan mencit yang diberi tempe sebanyak 2 dan 4 gram/hari.

Langkah selanjutnya, dilakukan analisis untuk mengetahui kelompok perlakuan yang mempunyai perbedaan derajat perlemakan hati. Jenis analisis yang dilakukan adalah analisis *Post Hoc* dengan uji *Mann-Whitney* dan hasilnya dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Perbedaan Derajat Perlemakan Hati antar Kelompok Perlakuan

Kelompok Perlakuan		p
K-	K-	-
	K+	0,001*
	P1	0,001*
	P2	0,002*
K+	K-	0,001*
	K+	-
	P1	0,027*
	P2	0,004*
P1	K-	0,001*

P2	K+	0,027*
	P1	-
	P2	0,018*
	K-	0,002*
	K+	0,004*
	P1	0,018*
	P2	-

Keterangan:

* = perbedaan antar kelompok bermakna ($p < 0,05$)

Berdasarkan Tabel 2, diketahui bahwa terdapat pengaruh yang bermakna pada obesitas terhadap gambaran histopatologi hati dan juga terdapat pengaruh yang bermakna dengan pemberian tempe 2 dan 4 gram/hari terhadap perbaikan derajat perlemakan hati mencit obes.

Pembahasan

A. Pengaruh Obesitas terhadap Gambaran Histopatologi Hati Mencit (*Mus Musculus* L.)

Berdasarkan hasil pengamatan hati mencit menggunakan mikroskop dengan pembesaran 100x dan 400x, pada K- yang hanya diberikan pakan standar tidak terlihat adanya perlemakan hati. Akan tetapi, pada K+ yang diberikan pakan tinggi lemak dan protein terlihat adanya perlemakan hati derajat 2 dan 3.

Perlemakan hati pada K+ terjadi karena asupan lemak yang berlebih menyebabkan massa lemak di jaringan adiposa meningkat sehingga terjadi pelepasan *free fatty acid* (FFA) ke hepatosit disertai dengan peningkatan oksidasi dan esterifikasi lemak.¹² Selain itu, jaringan adiposa akan mengeluarkan Tumor Necrosis Factor (TNF)- α yang akan menghambat masuknya glukosa ke dalam sel sehingga terjadi resistensi insulin.¹³ Selanjutnya, resistensi insulin yang terjadi akan mengganggu proses penyimpanan serta sintesis lemak karena insulin merangsang lipogenesis pada jaringan adiposa dengan cara meningkatkan produksi *acetyl-CoA*, asupan trigliserida, dan asupan glukosa.¹⁴

Hasil dari proses-proses tersebut adalah terbentuknya trigliserida dalam jumlah besar yang akan berakumulasi di dalam hati. Hepatosit akan mengalami kerusakan yang pada fase awal ditandai dengan adanya teatosis *macrovesikular* sehingga nukleus terdorong kepinggir hepatosit. Apabila fase ini terus berlanjut, akan terjadi *steatohepatitis*, yaitu perlemakan hati yang disertai inflamasi

dengan atau tanpa fibrosis perisinusoidal. Pada gambaran histologinya tampak *ballooning*, sebaran neutrofil serta limfosit, dan terkadang badan Mallory. Proses ini akan meluas hingga terjadi sirosis hati dengan gambaran histologi terlihat adanya steatosis yang berkurang atau bahkan menghilang.¹⁵

Berdasarkan uji statistik juga diketahui bahwa terdapat pengaruh yang bermakna pada terhadap gambaran histopatologi hati, ditandai dengan perlemakan hati yang terjadi pada semua mencit. Hasil penelitian ini sesuai dengan teori-teori yang ada mengenai hubungan antara obesitas dan NAFLD. Salah satu contohnya pada penelitian Yasutake, mengenai penanganan NAFLD melalui asupan nutrisi yang menyatakan bahwa prevalensi NAFLD lebih tinggi pada anak yang obes dibandingkan dengan yang tidak obes. Begitu juga dengan penelitian Machmud, mengenai pencegahan penyakit perlemakan hati yang menyatakan bahwa faktor yang dominan terhadap kejadian perlemakan hati adalah obesitas.

B. Pengaruh Pemberian Tempe terhadap Gambaran Histopatologi Hati Mencit (*Mus Musculus* L.) Obes

Pada P1 dan P2 jika dibandingkan dengan K+ dapat dilihat adanya perbaikan derajat perlemakan hati. Perbaikan ini terjadi karena adanya kandungan zat gizi di dalam tempe yang berfungsi untuk mengurangi massa lemak tubuh, yaitu *Polyunsaturated Fatty Acid* (PUFA).¹⁶ Jenis PUFA yang banyak terkandung di dalam tempe adalah asam linoleat dan merupakan asam lemak yang tidak dapat disintesis oleh tubuh.

Asam linoleat berfungsi untuk mengurangi kadar LDL dan meningkatkan kadar HDL dalam tubuh yang berpengaruh terhadap penurunan massa lemak tubuh, termasuk massa lemak di jaringan adiposa.¹⁷ Selanjutnya, penurunan massa lemak di jaringan adiposa akan menghambat pelepasan FFA ke hepatosit sehingga terjadi pengurangan perlemakan di dalam hati.

Selain PUFA, di dalam tempe juga terdapat senyawa kimia, genistein *isoflavan*, yang berfungsi untuk menghambat pengeluaran TNF- α oleh jaringan adiposa. Terhambatnya pengeluaran TNF- α akan mengurangi resistensi insulin sehingga

mendorong terjadinya lipolisis dan menghambat adipogenesis. Akhirnya, proses lipolisis yang meningkat akan menyebabkan penurunan massa lemak di dalam jaringan adiposa sehingga terjadi pengurangan perlemakan di dalam hati.¹⁸

Hasil penelitian ini tidak sejalan dengan penelitian Lailiet mengenai efek susu kedelai hitam terhadap perbaikan histopatologi hati tikus yang diberi diet tinggi lemak. Pada penelitian ini dijelaskan bahwa pemberian susu kedelai hitam tidak memberikan efek yang bermakna terhadap kelompok perlakuan karena waktu pemberian susu kedelai hitam belum berlangsung lama sehingga belum dapat memperbaiki kerusakan hati secara optimal.

Berdasarkan penelitian yang telah ada, diketahui bahwa perbaikan derajat perlemakan hati dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti lama waktu perlakuan dan dosis tempe yang diberikan. Hal ini dapat dilihat pada penelitian Iskandar, mengenai penentuan kadar asam linoleat pada tempe secara kromatografi gas diketahui bahwa kandungan asam linoleat dalam 100 gram tempe sebanyak 7,23 gram. Hasil ini menunjukkan bahwa dosis tempe yang diperlukan untuk mencukupi kebutuhan harian asam linoleat adalah sekitar 417 gram tempe atau setara dengan 3 potong tempe berukuran sedang. Selain itu, dapat diketahui pula pada penelitian Priastiti mengenai perbedaan kadarkolesterol LDL pada pemberian tempe kedelai hitam dan kedelai kuning dengan hasil yang tidak bermakna secara statistik karena waktu perlakuan hanya 14 hari dengan dosis tempe yang diberikan sebanyak 150 gram.

Simpulan

Pengaruh obesitas terhadap gambaran histopatologi hati mencit (*Mus musculus* L.) berupa perlemakan di hati yang ditandai dengan adanya steatosis, *ballooning*, dan inflamasi intralobular atau portal. Adapun pemberian tempe sebanyak 2 dan 4 gram/hari selama 28 hari perlakuan dapat mengurangi gambaran perlemakan hati mencit (*Mus musculus* L.) obes tersebut.

Daftar Pustaka

1. Sugondo, S. Obesitas. Dalam: Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiati S, penyunting. Buku Ajar Ilmu Penyakit

- Dalam. Edisi ke-5 (terjemahan). Jakarta: Interna Publishing. 2009. hlm. 1973-83
2. WHO. Overweight and obesity. 2015 [internet]. [diakses pada tanggal 27 September 2015]. Tersedia di <http://www.who.int>.
 3. Fadjar, E. Provinsi di Indonesia dengan obesitas. 2014 [internet]. [diakses pada tanggal 29 September 2015]. Tersedia di <http://gaya.tempo.co/read/news>.
 4. Febrida, M. Orang dewasa di RI tertinggi di dunia?. 2014 [internet]. [diakses pada tanggal 07 Oktober 2015]. Tersedia di <http://health.liputan6.com>.
 5. Widiyanti W, Tafal Z. Aktivitas fisik, stres, dan obesitas pada pegawai negeri sipil. Jurnal Kesmas Nasional. 2014;8(7): 330-6.
 6. Horvath S, Erhart W, Brosch M, Ammerpohl O, Schonfels WV, Ahrens M, et al. Obesity Accelerates Epigenetic Aging of Human Liver. PNAS. 2014; 111(43):15538-43.
 7. Arslan N, Buyukgebiz B, Ozturk Y, Cakmakci H. Fatty Liver in Obese Children: Prevalence and Correlation with Anthropometric Measurements and Hyperlipidemia. Turkish Journal. 2005; 47(1):23-7.
 8. Bedogni G, Nobili V, Tiribelli C. Epidemiology of fatty liver: an update. WJG. 2014; 20(27):9050-4.
 9. Badan Standarisasi Nasional. Tempe Kedelai. Jakarta: Standar Nasional Indonesia (SNI). 2009. 1-33.
 10. Astuti R, Aminah S, Syamsianah A. Analisis Zat Gizi Tempe Fortifikasi Zat Besi berdasarkan Pemasakan. Semarang: Universitas Muhammadiyah Semarang. 2012. 103-11.
 11. Badan Standarisasi Nasional. Tempe: Persembahan Indonesia untuk Dunia. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional. 2012.
 12. Romadhona, S. Hubungan kadar adiponektin dengan penyakit perlemakan hati non alkohol pada remaja obesitas [Tesis]. Semarang: Universitas Diponegoro. 2009.
 13. Djausal, A. Effect of central obesity as risk factor of metabolic syndrome. J Majority. 2015; 4(3):19-22.
 14. Susantiningsih, T. Obesitas dan stres oksidatif. JuKe Unila. 2015;5(9):89-93.
 15. Nurman A, Huang M. Perlemakan hati non alkoholik. Universa Medika. 2007; 26(4):205-15.
 16. Yasutake K, Kohjima M, Kotoh K, Nakashima M, Nakamura M, Enjoji M. Dietary habits and behaviors associated with nonalcoholic fatty liver disease. WJG. 2014; 20(7):1756-67.
 17. Machmud, R. Pencegahan penyakit dan promosi kesehatan untuk penyakit perlemakan hati melalui penanganan kegemukan. Majalah Kedokteran Andalas. 2000; 24(2):47-56.
 18. Priastiti, D. Perbedaan kadar kolesterol LDL penderita dislipidemia pada pemberian tempe kedelai hitam dan tempe kedelai kuning [Artikel Penelitian]. Semarang: Universitas Diponegoro. 2013.
 19. Damanik, H. Potensi tempe kedelai dalam terapi nutrisi medik pada obesitas dewasa dengan komorbid. Sumatera Utara: Universitas Sumatera Utara. 2009.
 20. Laili N, Luqman E, Lukismanto B. The effect of black soybean milk on liver recovery histopathology in rat (*Rattus norvegicus*) with high fat diet. Surabaya: Universitas Airlangga. 2009.
 21. Iskandar. Penentuan kadar asam linoleat pada tempe secara kromatografi gas. Bandung: Universitas Padjajaran. 2004.